Product sheet

Komórki podklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Informacje ogólne

Description	Komórki MC3T3-E1 Subclone 14 są cennym zasobem w naukach biologicznych, szczególnie w badaniach osteoblastów. Pochodzące z kalwarii myszy C57BL/6, komórki te zostały starannie wyselekcjonowane w oparciu o ich wysoką aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP) w stanie spoczynku. Ta unikalna cecha czyni je idealnym modelem do badania różnicowania osteoblastów i tworzenia zwapniałej tkanki kostnej in vitro. Jako typ komórek preosteoblastycznych, komórki MC3T3-E1 Subclone 14 wykazują morfologię fibroblastów i są głównie związane z tkanką kostną pochodzącą z kalwarii. Jedną z godnych uwagi cech komórek MC3T3-E1 Subclone 14 jest ich zdolność do różnicowania się w osteoblasty i osteocyty. Dzięki dużemu podobieństwu morfologicznemu i funkcjonalnemu do pierwotnych osteoblastów kalwarii, komórki te stanowią niezawodną platformę do badania sygnalizacji macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) i zachowania związanego z różnicowaniem osteoblastów. Podczas hodowli z kwasem askorbinowym i nieorganicznym fosforanem w optymalnych stężeniach (3 do 4 mM), komórki MC3T3-E1 Subclone 14 wykazują niezwykły poziom różnicowania osteoblastów. Po zaledwie dziesięciu dniach tworzą one dobrze zmineralizowany ECM, zapewniając naukowcom wgląd w skomplikowany proces tworzenia tkanki kostnej. Co więcej, stwierdzono, że komórki te wydzielają kolagen, niezbędny składnik tkanki kostnej i wyrażają czynnik hamujący białaczkę mysią (MIF) w RNA. Takie cechy dodatkowo przyczyniają się do ich znaczenia w badaniu różnych procesów biologicznych związanych z rozwojem i homeostazą kości. Linia komórkowa MC3T3-E1 Subclone 14 została również wykorzystana w najnowocześniejszych badaniach. Na przykład, została ona wykorzystana do zaproponowania ram analizy cytoszkieletu włókien aktyny, oferując wgląd w złożoną architekturę wewnątrzkomórkową osteoblastów. Ponadto naukowcy zbadali wpływ biodegradowalnego magnezu i stopów magnezu na te komórki, badając ich interakcje z różnymi materiałami i ich wpływ na wybrane właściwości komórkowe. Dzięki różnorodnym zastosowaniom, komórki te są nieocenione w badaniach hodowli komórkowych 3D, zapewniając realistyczny model in vitro do badania zachowania i różnicowania osteoblastów w trójwymiarowym środowisku. Ich znaczenie rozciąga się na różne obszary badawcze, w tym inżynierię tkankową, regenerację kości i rozwój interwencji terapeutycznych w przypadku zaburzeń związanych z kością.
Organism	Mysz
Tissue	Kość, kalwaria
Applications	hodowla komórek 3D, badania różnicowania
Synonyms	MC3T3-E1 PODKLON 14

Charakterystyka

Breed/Subspecies	C57BL/6

Product sheet

Komórki podklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Age	Noworodek
Gender	Nieokreślony
Morphology	Fibroblast
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	Subklon 14 MC3T3-E1 (numer katalogowy Cytion 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Dane biomolekularne

Protein expression	Kolagen
Tumorigenic	Tak

Obsługa

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2.0 mM stabilna Glutamina, w: Rybonukleozydy, w: Deoksyrybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO3, w/o: Kwas askorbinowy (GIBCO, nr katalogowy A1049001. Nie dostarczamy tego produktu; prosimy o rozważenie innych dostawców. Jeśli potrzebujesz dalszej pomocy, daj nam znać)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki podklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki podklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki podklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Profil STR

M_18-3: 15
M_4-2: 20.3
M_6-7: 17
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2
M_1-1: 16,17
M_Sex: x,y
M_8-1: 16
M_2-1: 16
M_15-3: 22.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 19
M_17-2: 16
M_12-1: 17
M_5-5: 17
M_X-1: 28
M_13-1: 16
Human D4/D8: -